第5卷第4期　　动 物 学 研 究　　Vol.5, No.4
1984年11月　　ZOOLOGICAL RESEARCH　　Nov., 1984

中华大蟾蜍淋巴细胞姐妹染色单体互换(SCE)对环境诱变性的检测

温昌祥*　吕　群　林绥恩**　江绍慧　项　维

(复旦大学遗传学研究所)

摘　要

本文选用我国分布既广又常见的两栖动物——中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargavizans*)为实验材料，用活体给药，离体外周血培养的方法，以SCE为指标，测试两种已知阳性药物——环磷酰胺(cyclophosphamide)和甲基磺酸甲酯(MMS)的诱变性。实验证明，这两种药物的剂量为15毫克/公斤体重时，无论雌性和雄性动物的SCE和对照组都显著差异，对照组：♀8.3±0.55，♂8.6±0.62；环磷酰胺：♀13.67±0.86，♂11.47±0.60；甲基磺酸甲酯：♀11.87±0.74，♂10.9±0.62。

在这基础上我们又对在不同环境中生活的中华大蟾蜍进行了实际的检测，观察其淋巴细胞的SCE变化，结果如下：庐山样本的SCE最低，♀为7.7±0.23；♂为7.6±0.30。黄山、复旦大学校园样本的SCE略高于庐山的样本，但统计学上是不显著的。而来自某工厂污水厂和氧化塘样本的SCE，♀性分别为11.78±0.27和13.9±0.33；♂性分别为11.23±0.27和12.71±0.24，这些结果与庐山、黄山、复旦大学校园所得结果比较，统计学上差异显著。因此我们认为中华大蟾蜍淋巴细胞SCE可作为一个灵敏可靠的遗传毒理学新的测试系统。

自从Latt (1973) 提出姐妹染色单体差别染色(SCD)的技术以来，SCE已广泛用来作为检测环境中诱变剂和致癌物的一个手段。大量实验证明，SCE是一个灵敏可靠的指标 ((Vogel and Bauknecht, 1976; Allen and Latt, 1976; Allen *et al*., 1977; Kanda and Kato, 1979; Ramircz, 1980; 吕群等, 1981; 赵寿元等, 1981; 吕群等, 1982)，是目前环境中有害物质遗传毒理学检测的有效方法。本文选用我国各地区常见

* 蚌埠医学院生物教研室。
** 某化工基地环保所。

本文承蒙刘祖洞教授审阅，南昌市医科所罗萍萍同志和庐山植物园侯觉明同志提供庐山地区的材料，谨此一并致谢。

本文1983年1月12日收到，1983年10月27日收到修改稿。

的中华大蟾蜍为实验材料，测试了两种阳性药物环磷酰胺（cyclophosphamide）和甲基磺酸甲酯（MMS）的诱变性。并在这个基础上，对不同环境进行了实际检测。

材料和方法

动物 阳性药物实验组的动物采自复旦大学校园内。不同环境的实际检测，分别采自庐山、黄山、复旦大学校园以及某工厂生活区、污水厂和氧化塘。

方法 采用外周血培养制备染色体标本。培养基组成为RPMI1640 4.8ml，0.5%水解乳蛋白（用去NaCl的Earle's液配制）3.2ml，小牛血清 2 ml，自制PHA（广东鸡子豆，简便盐水法提取）0.5ml，青霉素100单位/ 1 ml，链霉素100单位/ 1 ml。用3.5%$NaHCO_3$调pH7.0—7.2。每培养瓶接种全血0.2ml，26°C下培养120小时，培养24小时加BrdU，最终浓度为15μg/ml，培养结束前10—15小时加秋水仙素，最终浓度为10μg/ml。取血时，剖开胸腹腔，用消毒注射器从心脏抽血，为了获得足够的血液，针头必须准确地插入心尖部份。常规空气干燥法制片。低渗液以0.046*M* KCl较好。

阳性药物实验组 实验动物先腹腔注射环磷酰胺或甲基磺酸甲酯（MMS），剂量分别为10mg/kg体重和15mg/kg体重两个剂量组。给药24小时后取血培养，方法同前。

姐妹染色单体差别染色（SCD）采用紫外线照射分化染色法（吕群等，1980）。将染色体标本放置在恒温水浴锅的金属板上，然后在标本片上布满 2 ×SSC液（以不溢出为度）。在 8 W紫外灯下，灯距 5 cm，45°C照射40分钟，蒸馏水冲洗，3 %Giemsa(P. B. S. pH 6.9) 染色 8 分钟。

结果和讨论

（一）中华大蟾蜍淋巴细胞SCE的敏感性鉴定

阳性药物实验组的动物，对照组和用药组分别观察30个细胞，结果表明环磷酰胺和甲基磺酸甲酯对中华大蟾蜍淋巴细胞的SCE都有显著的诱发作用，明显地提高了SCE数目。（图 1，图 2）从表列数据（见表 1）可见，10mg/kg体重的环磷酰胺所增加的SCE数目，在雌性动物中已达到统计学上差异显著的程度，而雄性动物则差异不显著。这说明雌性动物比雄性动物敏感。当用药剂量增加到15mg/kg体重时，环磷酰胺和甲基磺酸甲酯所增加的SCE数目，都达到了统计学上极显著的差异。这说明中华大蟾蜍淋巴细胞SCE对诱变剂和致癌物是敏感的，可以作为检测环境中诱变剂和致癌物的一个新的测试系统。

（二）中华大蟾蜍淋巴细胞SCE对不同环境的实际检测

实验中我们选择了庐山、黄山、复旦大学校园内以及某工厂的生活区、污水厂和氧化塘生活的蟾蜍作为实验材料，每一环境中均随机取雌雄性动物各 2 个个体进行SCE的测定，结果表明：采自庐山的动物SCE频率最低（见表 2 图 3），黄山和复旦大学校园内动物SCE频率略高于庐山，但统计学上差异不显著（见表 2）。某工厂生活区动物SCE频率（图 4），与庐山相比，雌性差异显著，雄性差异不显著，与复旦校园相比，

雌雄性差异均不显著。某工厂污水厂和氧化塘的动物与庐山或某工厂生活区相比，不论雌雄性差异均显著（见表 2 图 5）。

表 1　　环磷酰胺、甲基磺酸甲酯诱变的SCE

阳性药物	剂量 mg/kg体重	性别	动物数	观察细胞数	姐妹染色单体互换（SCE） 总数	SCE/细胞m±S.E	P值（与对照组比较）
环磷酰胺	0	♀	2	30	249	8.3±0.55	
	10	♀	2	30	301	10.03±0.64	P<0.05
	15	♀	2	30	410	13.67±0.86	P<0.001
	0	♂	2	30	258	8.6±0.62	
	10	♂	2	30	297	9.9±0.63	P>0.05
	15	♂	2	30	344	11.47±0.60	P<0.001
甲基磺酸甲酯	0	♀	2	30	249	8.3±0.55	
	10	♀	2	30	278	9.27±0.40	P>0.05
	15	♀	2	30	356	11.87±0.74	P<0.001
	0	♂	2	30	258	8.6±0.62	
	10	♂	2	30	268	8.93±0.44	P>0.05
	15	♂	2	30	327	10.9±0.62	P<0.02

表 2　　中华大蟾蜍淋巴细胞SCE对不同环境的测试结果

动物来源（采集地点）	性别	动物数	观察细胞数	姐妹染色单体互换(SCE) 总数	SCE/细胞m±S.E	P值（与庐山比较）	附注
庐山	♀	2	100	770	7.7±0.23		
复旦校园	♀	2	30	249	8.3±0.55	P>0.05	
某工厂生活区	♀	2	100	857	8.57±0.27	P<0.02	与复旦校园相比较 P>0.05
某工厂污水厂	♀	2	100	1178	11.78±0.27	P<0.001	与某工厂生活区比较 P<0.001
某工厂氧化塘	♀	2	100	1391	13.91±0.33	P<0.001	与某工厂生活区比较 P<0.001
庐山	♂	2	100	760	7.6±0.30		
黄山	♂	1	30	235	7.83±0.48	P>0.05	
复旦校园	♂	2	30	258	8.6±0.62	P>0.05	
某工厂生活区	♂	2	100	734	7.34±0.24	P>0.05	与复旦校园比较 P>0.05
某工厂污水厂	♂	2	100	1123	11.23±0.27	P<0.001	与某工厂生活区比较 P<0.001
某工厂氧化塘	♂	2	100	1271	12.71±0.24	P<0.001	与某工厂生活区比较 P<0.001

另外从表2所列数据中，也可看到：雌性动物比雄性动物敏感，这与阳性药物实验组是相一致的。

为了实际检测环境因子的诱变性，通常要给供试动物人工模拟一个与自然条件接近的环境，我们想寻找一种合适的动物可以直接测试环境中污染因子的综合效应。我们选择了两栖类动物中华大蟾蜍。这种动物分布广，我国29个省市自治区，有24个都有分布（刘承剑等，1961）。它生活力强，对环境污染因子的耐受性大，可以在各种环境条件下生活，能直接反映环境污染情况。它活动性小，可以直接捕捉，进行测试，也可以圈养在某一特定环境中，经过一段时间后用于测试。该动物的淋巴细胞经过短期培养可以获得足够数量的有丝分裂象，分析2—3张片子就能满足研究的需要。它的染色体数目少（2n=22），比较大，都是中央和亚中央着丝粒染色体，姐妹染色单体色差明显，SCE醒目、清晰，容易计数。经用阳性药物实验和实际测试的结果，表明其SCE比较敏感，是比较理想的动物。

总之，我们认为中华大蟾蜍淋巴细胞SCE作为检测环境诱变因子的一个新的活体测试系统是可行的。

参 考 文 献

吕群等 1980 科学通报 24：1143—1144。

赵寿元等 1981 实验生物学报14（2）：123—127。

吕群等 1981 科学通报 21：1327—1329。

吕群等 1982 遗传4（4）：19—21。

刘承剑 1961 中国无尾两栖类（第一版）：315—320。科学出版社。

Allen, J. W. and Latt, S. A. 1976 *Nature* 260:449—451.

Allen, J. W. *et al.* 1977 *Cytogenet. cell genet.* 18: 231—237.

Kanda, N, and Kato, H. 1979 *Exp. cell Res.* 118: 431—434.

Latt, S. A. 1973 *Proc. Nat. Acad.* Sci *U. S. A.* 70(2): 3395—3399.

Ramirez, P. M. 1980 *Mutation Research* 74: 61—69.

Vogel, W. et *Bauknecht, T.* 1976 *Nature* 260: 448—449.

THE APPLICATION OF THE SCE OF LYMPHOCYTE OF *BUFO BUFO GARGARIZANS* FOR ENVIRONMENTAL MUTAGENICITY ASSAY

Wen Changxiang Lu Qun Lin Suien Jiang Shaohui Xiang Wei

(Institute of Genetics, Fudan University, Shanghai)

In this article we report the that technique of sister-chromatid exchange (SCE) of peripheral lymphocyte of *Bufo bufo gargarizans* was used for environmental monitoring.

Two known mutagens, cyclophosphamide and methyl methane sulphonate, were administrated intraperitoneally as positive controls. Several animal samples taken from different localities, namely from Lushan, Huongshan, the campus of Fudan University, as well as from the living area, the wasted water treatment plant and the oxidation pond of a certain factory in Shanghai suburb, were analyzed.

The experimental results demonstrated that the SCE frequencies of the two known positive controls, cyclophosphamide and methyl methane sulphonate were 13.67 ± 0.86 and 11.87 ± 0.74 respectively in female. The SCE frequency of Lushan's sample was the lowest, i. e., 7.7 ± 0.23 in female, and 7.6 ± 0.30 in male. Generally, the females were more sensitive than males. The SCE frequency of Huongshan's sample and that of Fudan University campus' sample were higher than that of Lushan's, but their differences were not significant statistically. Nevertheless, the SCE frequencies of the samples from the waste water treatment plant (11.78 ± 0.27 in female) and the oxidation pond (13.91 ± 0.33 in female) of a certain factory mentioned above were markedly higher.

The authors propound that the SCE of lymphocyte of *B.bufo gargarizans*, an animal widely distributed all over China, could be used as a sensitive and reliable screening system *in vivo* in genotoxicological studies.

温昌祥等：中华大蟾蜍淋巴细胞姐妹染色单体互换（SCE）对环境诱变性的检测

Wen Changxiang et al.: The Application of the SCE of Lymphocyte of *Bufo bufo gargarizans* for Environmental Mutagenicity Assay

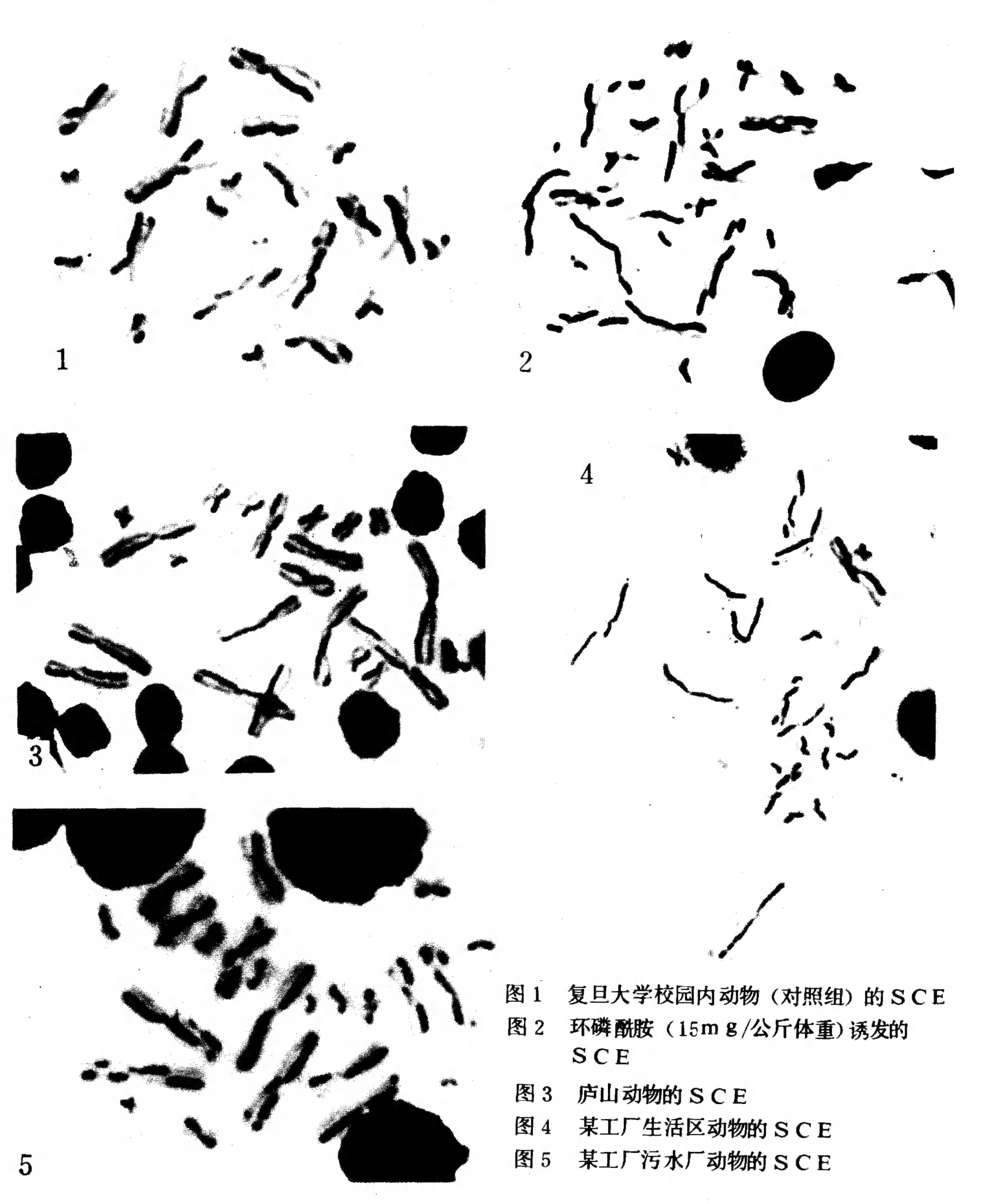


图 1　复旦大学校园内动物（对照组）的 SCE

图 2　环磷酰胺（15mg/公斤体重）诱发的 SCE

图 3　庐山动物的 SCE

图 4　某工厂生活区动物的 SCE

图 5　某工厂污水厂动物的 SCE